

Atividades antioxidantes e antimicrobianas de extratos orgânicos de *Ixora coccínea* L

Aline Carmosina da Silva Queiroz^{1*}

Ayla Marcia Cordeiro Bizerra²

Adalva Lopes Machado³

1. Graduação em Química (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte). Mestranda em Ensino (Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil).

2. Graduação em Química e Doutora em Química (Universidade Federal do Ceará). Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Brasil.

3. Graduação em Tecnologia de Alimentos (Instituto Centro de Ensino Tecnológico). Doutora em Engenharia de Pesca (Universidade Federal do Ceará, Brasil).

*Autor para correspondência: alinequeiroz30@hotmail.com

RESUMO

No Brasil, a alta diversidade de espécies vegetais com várias propriedades tidas popularmente como medicinais tem servido de base para o desenvolvimento da sua investigação científica. Assim, esse trabalho descreve a identificação de atividade antioxidante e antimicrobiana em extratos orgânicos de flores e folhas da espécie *Ixora coccínea* L, bem como relaciona essas atividades. A coleta da espécie foi realizada na região do Alto Oeste Potiguar, no IFRN em Pau dos Ferros. As amostras foram separadas em flores e folhas, as quais foram submetidas à extração exaustiva com solventes orgânicos para obtenção dos extratos etanólicos (EEIc) e metanólicos (EMIC). Com os extratos obtidos realizou-se a análise da atividade antioxidante pelo método sequestrante de radicais livres com DPPH em solução metanólica e, posteriormente, investigou-se a existência da ação antimicrobiana dos extratos que foram submetidos a testes de difusão em disco de papel de seis milímetros frente às cepas bacterianas padrões *Escherichia coli* e *Enterococcus faecium*. Comprovou-se a ação antioxidante e antimicrobiana dos extratos obtidos, onde o Extrato Etanólico das Folhas (EEF) e o Extrato Metanólico das Flores (EMFI), foram os que apresentaram resultados mais significativos. Dentre eles, EMFI apresentou elevada ação antioxidante nas menores concentrações e melhor ação antimicrobiana apresentando o maior halo de inibição frente à bactéria *Enterococcus faecium*. O extrato etanólico das folhas foi o único que demonstrou ação bactericida para as duas bactérias utilizadas. Conclui-se que a *Ixora coccínea* apresenta uma potente ação antioxidante podendo-se relacioná-la com a forte ação bactericida apresentada neste estudo.

Palavras-chave: Extratos orgânicos, *Ixora coccínea*, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

In Brazil, the high diversity of plant species with several properties popularly known as medicinal has served as the basis for the development of their scientific research. Thus, this paper describes the identification of antioxidant and antimicrobial activity of organic extracts of flowers and leaves of the species *Ixora coccínea* L, and relates these activities. The species was collected in the Alto Oeste Potiguar region, at the IFRN in Pau dos Ferros. The samples were separated in flowers and leaves, which were subjected to exhaustive extraction with organic solvents to obtain ethanolic (EEIc) and methanolic (EMIC) extracts. With the obtained extracts was performed the analysis of the antioxidant activity by scavenging method of free radicals DPPH in methanol solution and subsequently investigated the presence of the antimicrobial activity of the extracts that have undergone diffusion tests paper disk six millimeters against the standard bacterial strains *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium*. It proved the antioxidant and antimicrobial activity of the extracts, where the ethanol extracts of leaves (EEF) and flowers of methanol (EMFI), showed the most significant results. Among them, the EMFI showed high antioxidant activity in lower concentrations and better antimicrobial action featuring the largest halo of inhibition forward to the bacteria *Enterococcus faecium*. The ethanolic extract of the leaves was the only one that demonstrated bactericidal action for the two bacteria used. It is possible concluded that *Ixora coccínea* L has a potent antioxidant action and can be related to the strong bactericidal action presented in this study.

Keywords: Organic extracts, *Ixora coccínea*, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Introdução

A utilização de produtos naturais para fins medicinais se dá desde os primórdios da humanidade, especialmente para o alívio de diversas doenças através de ervas e folhas. Desde as civilizações indígenas que esses produtos vêm sendo utilizados tanto para fins estéticos no corpo, nas roupas e nos cabelos, quanto para fins medicinais. Com o passar dos tempos descobriu-se que as espécies vegetais também apresentavam substâncias com efeitos tóxicos, por exemplo, espécies vegetais que contêm terpenos, saponinas, lactonas sesquiterpênicas e produtos naturais do tipo furanocumarinas. A partir desses conhecimentos adquiridos por grupos de diversas etnias, a pesquisa envolvendo produtos naturais se tornou fundamental para o desenvolvimento das atividades farmacológicas (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006; VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Os produtos naturais representam uma fonte de extrema importância para a diversidade química, isso se deve ao fato de que "as plantas são fontes importantes de produtos biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos" (GUZZO, 2007, p. 2), pois elas possibilitam a investigação por novas moléculas e substâncias como fonte terapêutica de diversas doenças (FELÍCIO, 2010).

França e Queiroz (2012) afirmam que pesquisadores têm realizado estudos biológicos e farmacológicos acerca de compostos fenólicos que têm ampliadas as suas propriedades farmacológicas, em especial, a atividade antioxidante. Como exemplo, os mesmos autores destacam uma pesquisa realizada por Sousa et al. (2007) que encontraram ação antioxidante nas espécies amêndoa-bra (*Terminalia brasiliensis*), canela de velho (*Cenostigma macrophyllum*), capitão-do-

mato (*Terminalia fagifolia*), pau-terra-da-folha-grande (*Qualea grandiflora*) e carnaúba (*Copernicia prunifera*) mostrando que os antioxidantes podem ser encontrados nas mais diversas espécies. As substâncias antioxidantes podem ser enzimas, vitaminas, minerais, pigmentos naturais ou outros compostos vegetais responsáveis por prevenir ou retardar a ação danosa dos radicais livres (GONÇALVES, 2008).

Nesse contexto, a pesquisa fitoquímica é responsável por conhecer, avaliar ou identificar a presença de compostos químicos das espécies vegetais. "Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes" (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010, p. 2). Para essa identificação a fim de obter substâncias ativas, é relevante considerar as informações da sabedoria popular, visto que "é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo uso na medicina popular, do que em plantas escolhidas ao acaso" (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998, p. 100).

Ixora coccínea L. (figura 1) é uma planta nativa da Ásia, incluindo Bangladesh, sul da Índia e Sri Lanka, suas folhas são utilizadas no tratamento de diarreias e suas flores são utilizadas no tratamento de disenteria, leucorréia dismenorreia, hemoptise e bronquite catarral (SAHA et al. 2008). No geral, diferentes partes da planta (as flores, folhas, raízes e caules) são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de uma variedade de infecções, hipertensão, irregularidades menstruais, entorses, úlceras crônicas e doenças de pele, além do uso medicinal, ela é muito utilizada para fins ornamentais em todo o oeste e sudoeste da Nigéria (IDOWU et al., 2010).



Figura 1. Flores e folhas da *Ixora coccínea*. Flowers and leaves of the *Ixora coccínea*. **Fonte:** Arquivo pessoal. / **Figure 1.** Flowers and leaves of the coconut *Ixora*. Flowers and leaves of the *Ixora coccínea*. **Source:** Personal archive.

A realização de diversos estudos fitoquímicos apontaram a presença de alcalóides, flavonóides, saponinas, esteróis, terpenos e fenóis em diversas partes da planta. Além disso, também foram identificados em sua constituição, alguns compostos fitoquímicos, entre eles: lupeol, ácido ursólico, ácido oleanólico, sitosterol e rutina. Na raiz constatou-se a presença dos ácidos esteárico, oleico, linoleico e palmítico. Dentre esses estudos, relata-se ainda a presença do glicosídeo de leucocianidina, cianidina-3-rutinosídeo e delphinidina nas flores da planta (TOREY et al., 2010; BALIGA e KURIAN, 2012; PATIL e DATAR, 2015).

Saha et al. (2008) desenvolveram estudos sobre a atividade antioxidante da *Ixora coccínea* com extrato hidrometanólico (70% Metanol/30% água) da flor, que mostrou altas propriedades antioxidantes do extrato. Além da atividade antioxidante foi realizado um screening fitoquímico com o mesmo extrato, que revelou a presença de vários componentes bioativos, dentre os quais, os flavonóides e taninos foram os que apresentaram índices mais elevados na identificação. Ademais, compostos fenólicos presentes na flor atribuem a ação antioxidante do extrato e também em diversos sistemas biológicos atuando como eliminadores de oxigênio singlete e radicais livres. Quanto a esse estudo, investigou-se a atividade antioxidante utilizando o ensaio de eliminação de DPPH que exibiu uma inibição de 50% da concentração de 100,53 µg/mL em comparação ao ácido ascórbico utilizado como padrão de referência (IC₅₀ 58,92 µg/mL).

Outros efeitos pertencentes à *Ixora coccínea* foram evidenciados através de estudos pré-clínicos realizados com ratos e desenvolvido por Handunnetti et al. (2009). Destacam-se os efeitos da inibição da peroxidação lipídica induzida por ácido ascórbico com extratos etanólicos das raízes da *Ixora coccínea* em fígados de ratos. Além disso, outros estudos com extratos metanólicos e aquosos das folhas da planta apresentaram efeitos anti-ulcerogênicos, hepatoprotetores e antidiarreicos em ratos. Destaca-se ainda o tratamento *in vitro* de células peritoneais de rato com o extrato metanólico das folhas que inibiu a produção do óxido nítrico (HANDUNNETTI et al., 2009).

Pesquisas realizadas por Patil e Datar (2015) consideraram que por suas cores atraentes, solubilidade em água e efeitos terapêuticos altamente positivos, as flores da *Ixora coccínea* devem ser utilizadas como potencial substituto para corantes sintéticos em alimentos ou cosméticos. Além disso, elas apresentam um rico teor de antocianinas em sua composição, e propriedades resistentes à luz e altas temperaturas. Entretanto, os autores destacam que as pesquisas para o isolamento e caracterização estrutural das antocianinas monoméricas nas flores da planta estavam em fase de execução.

Quanto aos efeitos contra microrganismos, Annapurna et al. (2003) afirmam que extratos metanólicos e etéreos das folhas da *Ixora coccínea* foram analisados pelo método de difusão em disco de papel, descrito por Bauer e Kirby (1966), utilizando diversos microrganismos como *Arthrobacter citreus*, *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. polymixa*, *B. subtilis*, *Clostridium* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea*, *Nocardia* sp., *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*, e como padrão foi utilizado o antimicrobiano estreptomomicina.

Na análise realizada concluiu-se que o extrato de éter apresentou uma boa atividade antimicrobiana em relação ao padrão utilizado contra organismos gram negativos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Salmonella typhimurium*, *Sarcina lutea* e também em *Staphylococcus aureus*, assim como para o microrganismo *Bacillus subtilis*, gram positivo. Já os extratos metanólicos também apresentaram uma boa atividade quanto a todos os microrganismos analisados, porém com ação inferior ao extrato etéreo (ANNAPURNA et al., 2003).

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo: avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos etanólico e metanólico obtidos a partir das folhas e flores de *Ixora coccínea* L.

Materiais e Métodos

Material Vegetal

Para o desenvolvimento do estudo foram realizadas duas coletas da espécie vegetal na cidade de Pau dos Ferros, no Instituto Federal do Rio Grande do Norte com localização: longitude 38°12'13.4"W e latitude 6°08'43.3"S. A primeira coleta foi realizada durante o mês de maio de 2016, no período matutino e vespertino. As amostras vegetais foram levadas para o laboratório de Química Orgânica e separadas em flores e folhas. Finalmente, o material vegetal foi submetido à secagem ao ar para a retirada da umidade das amostras, e realizou-se a pesagem totalizando uma massa de 444g de flores e 120g de folhas para a elaboração dos respectivos extratos etanólicos.

A segunda coleta foi realizada durante o mês de maio de 2017, no período da manhã. O material foi separado em flores e folhas, submetido à secagem ao ar, e posteriormente, obteve-se uma massa de 340g de flores e 235g de folhas para a elaboração dos respectivos extratos metanólicos. A identificação do material foi realizada com ajuda do aplicativo PlantNet e pela professora Me. Louise Duarte Matias de Amorim do IFRN. A exsiccata do material encontra-se depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) sob número de identificação 14995.

Obtenção dos extratos orgânicos

Para a obtenção dos respectivos extratos, os materiais vegetais secos foram imersos em etanol e metanol em recipientes diferentes, e submetidos a processo de extração a frio. Em seguida à extração, filtrou-se os solventes, descartou-se o material vegetal e evaporou-se o material filtrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se assim os extratos etanólico e metanólico das flores e das folhas da *Ixora coccínea*. Obtiveram-se então quatro extratos: Extrato Etanólico das Flores (EEF), Extrato Etanólico das Folhas (EEF), Extrato Metanólico das Flores (EMF) e Extrato Metanólico das Folhas (EMF).

Determinação da atividade antioxidante

O desenvolvimento da avaliação quantitativa da atividade antioxidante se deu a partir da metodologia descrita por Almeida et al. (2010), com pequenas alterações, utilizando como controle positivo o ácido gálico. Para isso utilizou-se várias concentrações de cada extrato para monitorar o consumo do radical livre DPPH -1,1-difenil-2-picrilhidrazil pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorbância nas diferentes concentrações do extrato.

As amostras dos extratos obtidos foram dissolvidas em metanol, obtendo-se soluções com concentração que variaram entre 1,0 e 100 ppm. À cada 1mL de cada amostra adicionou-se 1,0 mL de solução metanólica de DPPH (60 mM), e deixaram-se as amostras repousar por 30 minutos. Após esse tempo, foram realizadas as leituras das absorbâncias em aparelho de espectrofotômetro Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis na faixa de 520nm. A porcentagem de inibição foi obtida através de comparação da absorção da solução contendo amostra, em relação à uma solução controle de DPPH sem amostra. Todos os procedimentos foram realizados em triplicata e o valor da média correspondente foi utilizado para quantificação da AA%.

Microrganismos

Para realização dos testes *in vitro* utilizaram-se cepas padrão procedentes da ATCC (American Type Culture Collection: *Escherichia coli* (ATCC 10536), bactéria gram-negativa, e a *Enterococcus faecium* (ATCC 5033), bactéria gram-positiva.

Determinação da atividade antimicrobiana

Os extratos em estudo foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e posteriormente foram adicionados 10 µL de cada extrato diluído em cada disco.

A atividade antimicrobiana em placas foi realizada por meio de testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão, sendo uti-

lizados discos de papel de filtro (Qualy) apresentando 6mm de diâmetro, previamente esterilizados antes de serem impregnados com as amostras de extratos estudadas. Como meio de cultura, utilizou-se o Agar Mueller-Hinton (DIFCO).

Cepas das espécies *Escherichia coli* e *Enterococcus faecium* foram cultivadas em ágar TSA (Tryptic Soy Agar) (DIFCO) e incubadas à 35 °C por 24 horas. A partir desse crescimento realizou-se o ajuste da densidade ótica padronizada a 625 nm (bactérias) com absorvância entre 0,08 e 0,1 (BAUER; KIRBY, 1966), em solução salina estéril (NaCl 0,85%). Posteriormente a solução ajustada, foi utilizada para semear a superfície das placas contendo meio de cultura. Após o término da semeadura introduziram-se nas placas os discos contendo os extratos a serem testados, sendo em seguida incubadas por 24 horas à 35 °C, para posterior observação da presença ou ausência de halos de inibição (NCCLS, 2003).

Como controle positivo utilizaram-se discos contendo o antibiótico gentamicina - 10µg/disco para o *Enterococcus faecium* e ciprofloxacina - 10µg/disco para *Escherichia coli*, como controle negativo utilizou-se discos de papel filtro (Qualy) impregnados com água destilada estéril (RAMOS et al., 2012).

Resultados e Discussão

Após obtenção dos extratos vegetais, obtiveram-se os seguintes rendimentos: EEFL (14,7%), EEF (46,2%), EMFL (13,61%) e EMF (10,72%). Os rendimentos obtidos podem ser considerados bons, visto que se tratam de extratos polares.

Atividade Antioxidante

Todos os extratos obtidos apresentaram índices significativos de atividade antioxidante para as concentrações analisadas. Para os extratos etanólicos, observou-se atividade antioxidante mais significativa nas concentrações de 100 ppm e 50 ppm para EEF, com percentuais de inibição de 68,6% ± 1,86 e 58,7% ± 1,86, respectivamente. Para o EEFL, o resultado mais significativo foi obtido na concentração de 50ppm, com índice de inibição de 49%±1,47. Nas concentrações entre 10 e 1,0 ppm, foi apresentado percentual de captura relativamente semelhante, com uma média de 40%±1,47 de atividade inibitória.

Rosa et al. (2010), também realizaram testes de atividade antioxidante pelo método do DPPH com extrato etanólico das folhas da *Palicourea rigida* pertencente à família Rubiaceae (mesma família de *Ixora coccinea* L) e identificaram que a partir de 533,20 µg/mL o extrato já inibe 50% dos radicais livres, além disso, ele apresenta um conteúdo de fenóis totais de 469,8 µg/mL (utilizando como padrão a catequina), o que seria a possível fonte de compostos para essa atividade. Comparando com os dados obtidos nesse estudo, observa-se que o potencial de redução do radical DPPH no EEF é ainda melhor do que no estudo citado, uma vez que inibe aproximadamente 60% dos radicais em 50 ppm.

Com relação à avaliação realizada com EMFL e EMF, observou-se um potencial de atividade antioxidante ainda mais elevado. Para o EMFL o melhor índice de inibição, foi de 75%±1,36, observado em soluções com 100 ppm de concentração. Nessa mesma concentração, o EMF, apresentou atividade inibitória de 62%±1,14. Nas concentrações entre 10 e 1,0 ppm, observou-se uma atividade antioxidante de 55%±1,36 para o EMFL e de 39%±1,14 para o EMF.

Os dados obtidos corroboram com o trabalho de Idowu et al. (2010), onde compostos isolados da *Ixora coccinea* foram analisados para determinação da ação antioxidante e os resultados apresentaram concentração eficiente capaz de inibir 50% dos radicais livres a partir de concentrações de 10 a 1,0 ppm.

Segundo Baliga e Kurian (2012) o extrato metanólico da flor possui um efeito sequestrador do DPPH mais efetivo do que a folha e o caule, e isso pode ser devido à maior concentração de polifenóis presentes nos extratos de flores, o que corrobora com os dados apresentados nesse estudo e também com a pesquisa realizada por Maciel et al. (2010) citada anteriormente. Brilhante et al. (2013) analisaram o teor de antocianinas presentes em *Ixora coccinea*, resultando em 393,3mg/100g, valores superiores ao teor da pele da jabuticaba e do repolho roxo, que são consideradas fontes potenciais dessa classe. Os autores afirmam que a forte presença desse grupo de metabólito secundário desempenha a função antioxidante da flor.

O trabalho realizado por Formaggio et al. (2014) a fim de investigar a ação antioxidante do extrato metanólico das folhas da *Palicourea crocea* (espécie da família Rubiaceae) frente a inibição do DPPH demonstrou que na concentração de 218,49 µg/mL o extrato inibe

50% dos radicais livres, no entanto, o extrato metanólico das folhas da *Ixora coccinea* inibe aproximadamente 60% do DPPH a partir de 50 ppm, bem como o extrato das flores. Com isso, percebe-se que a *Ixora coccinea* apresenta um forte potencial de ação antioxidante.

Em uma comparação entre os extratos etanólicos e metanólicos, identificou-se que a ação das folhas tanto no extrato etanólico, quanto no extrato metanólico apresenta maior inibição do radical livre em concentrações mais elevadas, isto é, entre 1000 e 50 ppm. Quanto aos extratos das flores observa-se que o extrato metanólico apresentou melhor atividade que o extrato etanólico, entretanto, a partir da concentração de 10 ppm o extrato metanólico das flores apresentou uma captura mais efetiva do que nos demais extratos analisados.

Torey et al. (2010) mostram que o conteúdo de fenóis totais presentes em extratos metanólicos das flores da *Ixora coccinea* é mais elevado do que no extrato metanólico das folhas, correspondendo a 210.55 ± 6.31 µg/mg e 180.56 ± 1.27 µg/mg, respectivamente. Os autores ainda ressaltam que ao realizar um screening fitoquímico do extrato metanólico da flor da *Ixora coccinea* revelou a presença de flavonoides e taninos. O que valida com os estudos mostrados por Saha et al. (2008) sobre o conteúdo de compostos fenólicos para este tipo de extrato.

Além do extrato metanólico das flores, os dois extratos das folhas também mostraram uma boa ação antioxidante, apesar de que a clorofila presente nas folhas, segundo estudo realizado Rodrigues (2013), possui atividade pro-oxidantes, quando expostas à luz, porém quando estão sob o abrigo da luz passam a apresentar ação antioxidante, o que mostra que a presença da clorofila não interfere na ação dos extratos das folhas, uma vez que o procedimento realizado nesse trabalho foi sob o abrigo da luz.

Além disso, nota-se que a atividade antioxidante das flores e folhas varia conforme a mudança do solvente utilizado para extração, uma vez que se sabe que cada solvente apresenta suas propriedades exclusivas, com isso, a interação durante a extração dos compostos presentes na composição do vegetal, ocorre de modo diferente. Segundo Reis et al. (2016) com a alteração do solvente para a elaboração do extrato a capacidade de extrair diferentes fitoquímicos irá depender da solubilidade ou polaridade do solvente, dessa forma, a ação antioxidante da planta poderá ser influenciada conforme o solvente utilizado. Essa afirmação também foi feita por Rockenbach et al. (2008) ao perceberem a diferença do potencial antioxidante de extratos de bagaços de uvas utilizando água, etanol e acetona em diferentes concentrações.

Contudo, a atividade antioxidante de extratos vegetais depende também da quantidade de fenóis totais presentes neles. Segundo Vieira (2013, p. 82) vários trabalhos têm demonstrado alta relação “entre grandes quantidades de compostos fenólicos e elevada atividade antioxidante em vegetais”, como a presente pesquisa que mostra o elevado potencial antioxidante dos extratos da *Ixora coccinea* que se deve pela presença de diversos compostos com propriedade antioxidante, sendo alguns já comprovados, como o ácido ascórbico, quercetina, entre outros compostos já isolados na planta.

Atividade Antimicrobiana

Atividade antimicrobiana

A partir dos ensaios microbiológicos realizados, foi possível observar que houve variação na ação dos extratos testados. Observou-se que tanto os extratos etanólicos como os extratos metanólicos, foram capazes de inibir principalmente o crescimento *in vitro* da bactéria gram negativa testada, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Halos de inibição dos extratos frente às cepas testadas. Halos inhibiting the extracts against the tested strains. / **Table 1.** Halos inhibiting the extracts against the strains tested. Halos inhibiting the extracts against the tested strains.

Extratos	Halo (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
EEF	12	16
EEFL	0	12
EMF	0	12
EMFL	0	18
Gentamicina (10µg/)	-	30
Ciprofloxacina (10µg)	29,5	-
Controle negativo	0	0

Legenda: EEF=Extrato Etanólico das Folhas; EEFL=Extrato Etanólico das Flores; EMF=Extrato Metanólico das Folhas; EMFL=Extrato Metanólico das Flores

Os tamanhos dos halos de inibição apresentados pelos extratos utilizados frente a bactéria *Enterococcus faecium* indicaram ações significativas, principalmente no extrato etanólico das flores (EMFI) que apresentou maior halo de inibição (18 mm). No entanto, não foi observada inibição do crescimento *in vitro* da bactéria *Escherichia coli* para a maioria dos extratos testados, com exceção do EEF que apresentou halo de 12 mm, confirmando sua ação antimicrobiana para a bactéria gram negativa.

Os discos contendo extratos etanólicos de folhas de *Ixora coccinea* apresentaram maior poder de inibição, quando comparados aos demais discos, do ponto de vista bacteriológico. Esses extratos indicaram maior eficiência no combate as duas espécies bacterianas testadas. A interpretação de eficiência do presente estudo, teve como base Ramos et al. (2012), indicando como não ativos os discos contendo extrato no qual seus halos de inibição apresentaram diâmetro menor que 9mm, como parcialmente ativo os que apresentaram diâmetro entre 9 e 14mm, como ativos os que apresentaram diâmetro entre 14 a 17mm e muito ativos os que apresentaram diâmetro superior a 17mm.

Com relação à ação bactericida dos extratos frente à bactéria gram-positiva *Enterococcus faecium*, o EMFI mostrou a maior ação antimicrobiana e apresentou elevados valores de inibição de radicais livres, em concentrações menores. Diante do exposto, percebe-se que os extratos que apresentaram melhor captura do radical livre DPPH foram os que demonstraram melhor ação antimicrobiana. O EEF apresentou o melhor índice de inibição de radicais livres, já EMFI apesar de ser o extrato que inibiu menos radicais livres nas concentrações maiores em relação aos demais, foi o que apresentou melhor potencial antioxidante em concentrações menores, dessa forma, esses mesmos extratos foram o que apresentaram maior halo de inibição dos microrganismos.

A atividade antimicrobiana de plantas medicinais é atribuída à presença de terpenóides e diversos compostos fenólicos tendo destaque a carvona, o timol, carvacrol e mentol, entre outros compostos, “e, apesar dos mecanismos de ação não estarem totalmente elucidados, parece estar associado ao caráter lipofílico dos compostos, havendo um acúmulo destes compostos nas membranas dos microrganismos ocasionando perda de energia pelas células”, ou seja, quando os extratos das plantas entram em contato com as bactérias os compostos presentes em sua composição começam a agir rompendo a parede celular das bactérias, dessa forma a bactéria é inibida pelos compostos da planta apresentando sua ação bactericida (BAPTISTA, 2012).

No presente estudo foi possível avaliar que a ação de inibição bacteriana dos extratos foi variável (Figura 2) indicando diferença entre bactérias gram positivas e gram negativas. Idowu et al. (2010) utilizaram compostos isolados da *Ixora coccinea* para analisar a atividade antimicrobiana, verificaram que tais compostos foram fracamente eficazes na inibição do crescimento da *Escherichia coli*. Os autores indicaram os compostos: rocinidina A2 (2), trímico de proantocianidina do tipo A duplamente ligado (3) junto à cinamartina B-1 (4), canferol-3,7-O- α -L-dirhamnosida (8).

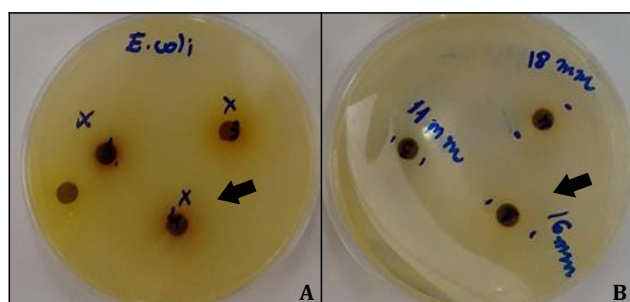


Figura 2. Halos de inibição apresentados pela ação de extratos de *Ixora coccinea*. A- *Escherichia coli* ATCC 10536; B - *Enterococcus faecium* ATCC 5033. Halos com número 4, correspondem a EEF. Halos inhibition by the action of extracts of *Ixora coccinea*. A- *E. coli* ATCC 10536; B - *Enterococcus faecium* ATCC 5033. Halos with number 4 corresponds to extract EEF. / **Figure 2.** Inhibition halos presented by the action of coconut *Ixora* extracts. A- *Escherichia coli* ATCC 10536; B - *Enterococcus faecium* ATCC 5033. Halos with number 4, correspond to EEF. Halos inhibition by the action of extracts of *Ixora coccinea*. A- *E. coli* ATCC 10536; B - *Enterococcus faecium* ATCC 5033. Halos with number 4 corresponds to extract EEF.

Outros estudos também comprovaram a baixa eficiência no combate a bactérias gram negativas como *Escherichia coli*, em extratos compostos por outras plantas da mesma família da *Ixora coccinea*. Um estudo realizado por Duarte (2012) com extratos etanólicos e frações orgânicas de cascas e caule de *Guettarda uruguensis* (pertencente à

mesma família da *Ixora coccinea*) revelou que a planta não apresenta ação antimicrobiana frente à *Escherichia coli*. É importante destacar que tal pesquisa foi desenvolvida utilizando o teste de difusão em disco e de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e para as duas metodologias a bactéria gram-negativa foi resistente à todas as amostras avaliadas. Analisando também extratos etanólicos e frações de cascas e caule dessa mesma espécie, Duarte et al. (2014) analisaram a atividade antimicrobiana frente a diversas bactérias, e apenas com relação à *Escherichia coli* não foi apresentada sensibilidade a nenhuma amostra avaliada.

Lima Neto et al. (2015) avaliaram extratos etanólicos das folhas de *Palicourea rigida* (Rubiaceae) frente a ação antimicrobiana para diversas cepas bacterianas incluindo a *Escherichia coli*, e não foi identificada atividade. Além das espécies citadas, Ribeiro et al. (2009) utilizaram as folhas da *Uncaria guianensis* (Rubiaceae) que foram submetidas para a elaboração de extratos etanólicos e, posteriormente, foi feita a análise de sua ação antimicrobiana frente a *Escherichia coli* e outras bactérias, no entanto, o extrato também não apresentou nenhuma ação contra esse microrganismo, tanto no teste de difusão em disco como na análise da concentração mínima inibitória. Dessa forma, existe a possibilidade dos compostos que compõem o extrato etanólico das folhas e flores da espécie estudada (*Ixora coccinea*) não demonstrarem dados ativos frente à bactéria *Escherichia coli*, assim como a maioria das espécies da família Rubiaceae.

Godói et al. (2011) realizaram o teste de difusão em disco com extratos etanólicos das folhas jovens e maduras, do caule e da raiz da planta *Urera aurantiaca*, (Urticaceae), utilizando as cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4435), e *Escherichia coli* (ATCC 25922) e verificaram que não houve ação bactericida em nenhum dos extratos supracitados.

No entanto, segundo Nascimento et al. (2000) as bactérias possuem habilidade genética de adquirir resistência a fármacos, dessa forma, a bactéria gram-negativa utilizada nesse estudo deve possuir alguma resistência em relação aos compostos presentes na composição da *Ixora coccinea*, com exceção do extrato etanólico das folhas que inibiu a bactéria em um diâmetro de 12 mm. Baptista (2012) relata que as bactérias gram-negativas possuem maior resistência à ação do extrato possivelmente pelas diferenças na composição da parede celular e membrana externa, uma vez que esse grupo de bactérias apresenta membrana externa com natureza lipídica composta por lipopolissacarídeos, já as bactérias a gram-positivas apresentam uma camada de peptidoglicano.

Ao avaliar a ação antibacteriana da bactéria *Enterococcus faecium*, verificou-se maior eficiência, principalmente em testes utilizando extratos metanólicos de flores, o que pode se relacionar, conforme os relatos da literatura citados por Torey et al., (2010), Baliga e Kurian (2012) e Patil e Datar (2015), com o conteúdo de flavonoides confirmados na composição da espécie, uma vez que compostos fenólicos são de extrema importância na atribuição dessas atividades.

Quanto ao EEF, que foi o único que apresentou ação contra a bactéria *Escherichia coli*, também se pode relacionar com a presença de compostos fenólicos, confirmados pelo estudo feito por Missebukpo (2013), que utilizou extrato hidroalcoólico. O autor afirma que a presença desses compostos fenólicos são fortes aliados para o potencial antioxidante da planta.

Segundo Reis et al. (2016), extratos metanólicos, etanólicos e clorofórmicos das espécies da família Rubiaceae já foram identificados como os extratos mais ativos frente a agentes patogênicos pela existência de fortes bioativos, podendo ter grandes utilidades como antimicrobianos. Além disso, assim como na atividade antioxidante, a mudança do solvente de extração também pode influenciar na ação antimicrobiana, devido os compostos serem extraídos conforme a interação com cada solvente.

Conclusões

Conclui-se que os extratos etanólicos e metanólicos das flores e folhas da *Ixora coccinea* apresentaram uma elevada ação antioxidante frente ao método sequestrante do DPPH. Em especial, nas menores concentrações, em que os extratos reduziram mais de 40% dos radicais livres, tendo destaque o EMFI que mostrou mais de 50% de redução do DPPH na concentração de 1 ppm sendo maior que o do padrão ácido gálico. Além disso, conforme os dados obtidos e comparado com trabalhos da literatura, a planta em estudo demonstrou apresentar uma atividade antioxidante bem mais elevada do que algumas plantas pertencentes a sua família, como por exemplo, a *Palicourea rigida* e *Palicourea crocea*, sendo um indicativo de a *Ixora coccinea* ser uma planta com propriedade medicinal, sugerindo que

entre diversos benefícios, a mesma favorece para o retardamento do processo de envelhecimento por apresentar potencial ação antioxidante.

Ademais, os quatro extratos avaliados demonstraram atividade antimicrobiana frente à bactéria gram-positiva, visto que todos os extratos inibiram a bactéria de forma satisfatória, apresentando grandes halos de inibição, destacando-se o EMFI que apresentou o maior halo de inibição. Além dele, o EEF apresentou ótima ação antimicrobiana frente às duas bactérias analisadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN), em especial ao campus Pau dos Ferros pela disponibilidade de infraestrutura e materiais, à professora Me. Louise Duarte Matias Amorim, pela identificação da espécie e ao CNPq pela bolsa concedida.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, M. C. S.; ALVES, L. A.; SOUZA, L. G. da S.; MACHADO, L. L.; MATOS, M. C.; OLIVEIRA, M. C. F.; LEMOS, T. L. G.; BRAZ-FILHO, R. Flavonoides e outras substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p.1877-1881, 2010.
- ANNAPURNA, J.; AMARNATH, P. V. S.; KUMAR, D. A.; RAMAKRISHNA, S. V.; RAGHAVAN, K.V. Antimicrobial activity of *Ixora coccinea* leaves. **Fitoterapia**, v. 74, n. 3, p.291-293, 2003.
- BALIGA, M. S.; KURIAN, P. J. *Ixora Coccinea* Linn.: Traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 18, n. 1, p.72-79, 2012.
- BAPTISTA, L. B. M. **Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos fitoterápicos produzidos na Pastoral da Saúde de Venda Nova do Imigrante-E.S.** 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, Vitória, 2012.
- BAUER, A.W; KIRBY, E.M. Antibiotic Susceptibility Testing by Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p.493-496, 1966.
- BRILHANTE, S. E. T.; NETO, F. B. de O.; ALCANTARA, L. A.; BERTINI, L. M. Determinação do teor de antocianinas e sua influência na variação da coloração dos extratos de flores do Oeste Potiguar. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFRN, 9, 2013, Currais Novos. **Anais...** Currais Novos: Propi, 2013. p.0636 - 0644.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p.99-105, 1998.
- DUARTE, A. F. S.; HIROTA, K.; OLIVEIRA, B. de; CAMPOS, R.; MURAKAMI, F. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato etanólico bruto e frações orgânicas obtidas a partir da casca do caule da espécie *Guettarda uruguensis* Cham. & Schtdl. (Rubiaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 4, p.607-614, 2014.
- FELÍCIO, R. de. **Produtos naturais marinhos: identificação de metabólitos fenólicos halogenados na macroalga *Bostychia tenella* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) e potencial biológico de micro-organismos endofíticos associados.** 2010. 207 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos), Universidade de São Paulo/USP, Ribeirão Preto, 2010.
- FORMAGIO, A. S. N.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. do C.; ZÁRATE, N. A. H.; DE MATOS, A. I.; VOLOBUFF, C. R. F. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, p.629-638, 2014.
- FRANÇA, E. L. T.; QUEIROZ, T. M. de. Atividade antioxidante pelo método DPPH de extrato vegetal da casca da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 7, 2012, Tocantins. **Anais...** Tocantins: Ifto, 2012. p. 01 - 06.
- GODÓI, A. de A.; ISHIKAWA, R. B.; PORTO, K. R. de A.; ROEL, A. R.; XAVIER, P. C. N. Avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica de *Urera aurantiaca*. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, p.198-202, 2011.
- GONÇALVES, A. E. de S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C.** 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia), Universidade de São Paulo/USP, São Paulo, 2008.
- GUZZO, L. S. **Avaliação de atividades farmacológicas de diferentes espécies de *Lychnophora* utilizadas pela população.** 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.
- HANDUNNETTI, S. M.; KUMARA, R. R.; DERANIYAGALA, S. A.; RATNASOORIYA, W. D. Anti-inflammatory activity of *Ixora coccinea* methanolic leaf extract. **Pharmacognosy research**, v. 1, n. 2, p. 80-90, 2009.
- IDOWU, T. O.; OGUNDAINI, A. O.; SALAU, A. O.; OBUOTOR, E. M.; BEZABIH, M.; ABEGA, B. M. Doubly linked, A-type proanthocyanidin trimer and other constituents of *Ixora coccinea* leaves and their antioxidant and antibacterial properties. **Phytochemistry**, v. 71, n. 17-18, p.2092-2098, 2010.
- LIMA NETO, G. A.; KAFFASHI, A.; LUIZ, W. T.; FERREIRA, W. R.; DIAS DA SILVA, Y. S. A.; PAZIN, G. V.; VIOLANTE, I. M. P. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 43, p.1069-1077, 2015.
- MACIEL, M.A.M.; ECHEVARRIA, A.; MONTEATH, S.A.F.A.; VEIGA Jr., V.F.; KAISER, C.R.; GOMES, F.E.S.; SILVEIRA, J.W.S.; SOUSA, R.H.C.; VANDERLINDE, F.A. Ethnobotany, Chemistry and Pharmacology Studies of the medicinal specimen *Ixora coccinea* Linn. In: **Medicinal Plants: Phytochemistry, Pharmacology and Therapeutics**, Eds. Gupta, V.K.; Singh, G.D.; Singh, S.; Kaul, A. Editora Daya : Nova Delhi, v.1, cap 2, p.32-50, 2010.
- MISSEBUKPO, A. Antioxidant effects of *Ixora coccinea* Linn. in a rat model of ovalbumin-induced asthma. **African Journal of Pharmacy And Pharmacology**, v. 7, n. 42, p. 2794-2800, 2013.
- NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal Of Microbiology**, v. 31, n. 4, p.247-256, 2000.
- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2- A8 (ISBN 1-56238-485- NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- PATIL, N.; DATAR, A. Extraction, stability and separation of anthocyanins of *Ixora Coccinea* Linn. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 3, p.198-202, 2015.
- RAMOS R. S.; SARMENTO, P. A.; LINS, T. H.; LÚCIO, I. M. L. CONSERVA, L. M. BASTOS, M. L. A. **Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Zeyheria Tuberculosa*.** Rev. Rene, v. 13, n. 5, p. 1015-24, 2012.
- REIS, A. J.; CARRION, L. L.; RODRIGUES, K.; FENALTI, J. M.; MATA-SANTOS, T.; SCAINI, C. J.; MARTINS, D.; MESQUITA, D. W. de O.; MESQUITA, A. S. S.; NÚÑEZ, C. V.; DA SILVA, P. E. A.; RAMOS, D. F. Avaliação das atividades antifúngica, antimicrobiana e larvicida de *Duroia macrophylla* e *D. saccifera*. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-16, 2016.
- RIBEIRO, C. M.; SOUZA, K. G. da S.; RIBEIRO, A. C.; VIEIRA, A. B. R.; MENDONÇA, L. C. V.; BARBOSA, W. L. R.; VIEIRA, J. M. dos S. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma: Ciências Farmacêuticas**, Brasília, v. 21, n. 1/2, p.45-49, 2009.
- ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L. da; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.238-244, 2008.
- RODRIGUES, G. C. R. **Estudo fitoquímico das folhas de *Guettarda paltypoda* D.C. (Rubiaceae) e avaliação da atividade biológica.** 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2013.
- ROSA, E. A. da; E SILVA, B. C. e; DA SILVA, F. M.; TANAKA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; DE OLIVEIRA, C. M. A. de. KATO, L.; FERREIRA, H. D.; DA SILVA, C. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p.484-488, 2010.
- SAHA, M. R.; ALAM, M. A.; AKTER, R. JAHANGIR, R. In vitro free radical scavenging activity of *Ixora coccinea* L. **Bangladesh Journal Of Pharmacology**, v. 3, n. 2, p.90-96, 2008.
- SILVA, N. L. A. da; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. da. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, p.1-17, 2010.
- SILVA, C. M. de M.; E SILVA, H. R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; DA COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.
- TORREY, A.; SASIDHARAN, S.; LATHA, L. Y.; SUDHAKARAN, S.; RAMANATHAN, S. Antioxidant activity and total phenolic content of methanol extracts of *Ixora coccinea*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 10, p.1119-1123, 2010.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p.519-528, 2005.
- VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. da S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p.326-337, 2006.
- VIEIRA, P. M. **Avaliação da composição química, dos compostos bioativos e da atividade antioxidante em seis espécies de flores comestíveis.** 2013. 102 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.